

## Computational study on antigen-binding mechanism for high-affinity antibody

著者	福西 広晃
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (A), no. 5634, 2011.3.25 Includes bibliographical references
発行年	2011
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/113130">http://hdl.handle.net/2241/113130</a>

氏 名 (本籍)	ふくにしひろあき 福 西 広 晃 (奈 良 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 5634 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	数理物質科学研究科
学 位 論 文 題 目	<b>Computational study on antigen-binding mechanism for high-affinity antibody</b> (高親和性抗体における抗原結合メカニズムの計算科学的研究)
主 査	筑波大学教授 理学博士 白 石 賢 二
副 査	筑波大学教授 理学博士 舩 本 泰 章
副 査	筑波大学教授 工学博士 初 貝 安 弘
副 査	筑波大学准教授 博士 (理学) 宮 崎 州 正
副 査	筑波大学准教授 博士 (理学) 岡 田 晋

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

抗原抗体反応システムは生命における免疫システムの根幹をなすもので、生物物理学、生化学は勿論のこと、医学においても最も重要なシステムの一つである。抗体は相対する抗原に対抗するために、遺伝子レベルでその構造を変化させ、抗原に対する結合力を強くしてゆくことが知られている。日本では、利根川進氏が免疫グロブリンの特異な遺伝子構造を解明した功績に対してノーベル賞を与えられていることから、抗原抗体反応システムが人類にとって極めて重要な知見となっていることは言うまでもないであろう。抗体は Y 字型の構造を取り、Y 字型の 2 つに分かれた各分岐の先端部分に抗原を結合させることによってその機能が発現することが知られている。抗体が抗原と結合する部位が各々の抗原との結合に適した構造に変化することが、免疫システムの根幹であることが、生化学的に知られているが、抗原抗体反応自体を具体的に原子レベルで解明した研究は殆どなされていない。

このような学術的状況において、本博士論文は、抗フルオレセイン抗体に関する抗原抗体反応の機構を原子レベルの計算で明らかにするとともに、野生抗体に比べて人工抗体がフルオレセインに対して高い結合性を示す物理的起源を詳細に明らかにしたものである。原子レベルの計算には原子間力、クーロン相互作用等を含んだ生体高分子をよく記述する AMBER 力場を用いた分子動力学シミュレーションによって行った。その結果、フルオレセインに関する抗原抗体反応の自由エネルギープロファイルを計算すると同時に当該抗原抗体反応過程を原子レベルで詳細に考察した。なお、自由エネルギープロファイルの計算にはジャルチンスキー等式を用い、計算精度の向上のためにブートストラップ法を用いた。

上述した原子レベルの分子動力学シミュレーションの結果、いくつかの重要な結果が得られた。まず野生型抗体および人工抗体におけるフルオレセインとの結合の自由エネルギーに関しては、ほぼ実験を再現できた。この系に関する実験の再現は計算科学としては世界初のことである。さらに、人工抗体の方が野生型抗体に比べて結合性が高いことも得られた。実験的には人工抗体は野生型抗体の 1800 倍の結合力を有するが、

計算においても人工抗体が野生型抗体の1000倍程度の結合力を持つことを再現できた。

次に野生型抗体および人工抗体とフルオレセインとの結合反応における反応の自由エネルギープロファイルをジャルチンスキー等式を用いて計算することに世界ではじめて成功した。その結果、野生型抗体の自由エネルギープロファイルには2つの越えなくてはならないポテンシャル障壁が存在することがわかった。第一のポテンシャル障壁は大きなアミノ酸側鎖であるチロシンの存在に起因する立体障害である。第二のポテンシャル障壁はイオン性のアスパラギン酸側鎖とフルオレセイン間に働くクーロン斥力に起因するものである。それに対し、人工抗体に対しては野生型抗体において見られたポテンシャル障壁は存在しない。これは野生型抗体のポテンシャル障壁に起源となっていた大きなアミノ酸側鎖のチロシンを小さなアミノ酸側鎖であるセリンに置換して立体障害を取り除いたこと、イオン性のアスパラギン酸側鎖をヒスチジン側鎖に置換してクーロン斥力が働かないようにしたことがその起源である。つまり人工抗体はフルオレセインとの結合反応において障害となる要素がほぼ完全に取り除かれた状態になっている。上記計算結果と関連することであるが、野生型抗体においては結合反応の障害となる立体障害とクーロン斥力がその反応座標中に存在するため、ポテンシャル障壁付近では分子動力学シミュレーション中における構造ゆらぎが大きくなることが見られた。

このように原子レベルの分子動力学シミュレーションによって、抗原抗体反応においては、その反応を阻害するアミノ酸側鎖を遺伝子レベルで置換することで、より結合性の高い抗体が得られることがわかりこれが普遍的な人工抗体の設計指針となりうることがわかる。本計算は抗フルオレセイン抗体に関する計算であるが、得られた結果は抗原抗体反応全般に適用できる極めて重要な研究成果である。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、分子生物学、生物物理学、医学等において極めて重要な免疫システムの根幹となる抗原抗体反応の原子レベルの機構を分子動力学シミュレーションにより、明らかにしたものである。実験条件に対応した環境中での、自由エネルギープロファイルと反応過程における構造変化を解明し、抗フルオレセイン抗体において、野生型抗体と人工抗体の反応過程の相違を世界ではじめて明らかにしたものである。上記の抗原抗体反応の原子レベルの機構を理論的に明らかにしたことは、極めて重要な成果と評価できる。また上記結果は、より結合性の高い抗体の設計指針にもつながり、分子生物学、生物物理学、医学はもとより、薬学においても極めて重要な研究成果であるということが出来る。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。